

УДК 636.2:612.014:578.08

ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА МАСТИТА КОРОВ**Желавский Н.Н.**Подольский государственный аграрно-технический университет,
г. Каменец-Подольский, Украина

*В статье рассмотрены иммунобиологические аспекты патогенеза мастита коров украинской черно-пестрой породы. Изучены особенности проявления иммунных реакций в организме животных при развитии субклинического и гнойно-катарального мастита. Доказано, что субклинический и гнойно-катаральный мастит сопровождается изменениями факторов неспецифической иммунобиологической резистентности и функциональных параметров специфической иммунобиологической реактивности. **Ключевые слова:** коровы, молочная железа, субклинический мастит, гнойно-катаральный мастит, фагоцитоз, интралейкоцитарный лизоцим, лизосомальные катионные белки, миелопероксидаза, НСТ-тест, Т- (CD3+) и В-(CD22+) –лимфоциты, циркулирующие иммунные комплексы, молекулы средней молекулярной массы, иммунный гомеостаз.*

IMMUNOBIOLOGICAL ASPECTS OF THE PATHOGENESIS OF COWS MASTITIS**Zhelavskiy M.M.**

State Agrarian and Engineering University in Podilya, Kamyanets-Podilsky, Ukraine

*Immunobiological aspects of the pathogenesis of mastitis of cows of the Ukrainian black-and-white breed are considered in the article. The features of the manifestation of immune reactions in the body of animals in the development of subclinical and purulent-catarrhal mastitis have been studied. It is proved that subclinical and purulent-catarrhal mastitis is accompanied by changes in factors of nonspecific immunobiological resistance and functional parameters of specific immunobiological reactivity. **Keywords:** cows, mammary gland, subclinical mastitis, purulent catarrhal mastitis, phagocytosis, intralleukocyte lysozyme, lysosomal cationic proteins, myeloperoxidase, NBT-test, T- (CD3+) and B- (CD22+) lymphocytes, circulating immune complexes, molecules of medium molecular weight, immune homeostasis.*

Введение. Мастит коров - распространенное заболевание молочного скотоводства, которое наносит серьезный экономический ущерб промышленным хозяйствам стран СНГ и Европы [1-7]. На сегодняшний день разработаны и внедрены современные методы диагностики, профилактики и терапии мастита [8-11], но, несмотря на это, еще мало изучены иммунологические аспекты патогенеза патологии молочной железы. Общеизвестно, что в патогенезе мастита задействованы сложные механизмы развития [12-15], при этом главное значение играют иммунные реакции [16-19]. Каскад иммунологических процессов определяет особенности проявления заболевания, прогноз и исход патологии [7, 9, 14].

Исходя из актуальности темы, целью нашей работы стало изучение функционального состояния неспецифической иммунобиологической резистентности и специфической иммунобиологической реактивности организма коров при развитии мастита.

Материалы и методы исследований. Клинико-экспериментальные исследования были проведены в фермерских хозяйствах Украины (Хмельницкая и Винницкая область). Лабораторные исследования осуществлялись в специализированной лаборатории иммунологии репродукции животных факультета ветеринарной медицины Подольского государственного аграрно-технического университета (г. Каменец-Подольский, Хмельницкая область, Украина). Опыты проводились на коровах-аналогах украинской черно-пестрой молочной породы с использованием метода групп и периодов.

Для проведения клинико-экспериментальных исследований было сформировано три группы животных. Первую, контрольную, группу (n=32) составляли клинически здоровые коровы. Во вторую - подопытную - группу (n=58) входили животные, больные субклиническим маститом. Третью группу (n=28) составляли коровы с клиническим диагнозом «гнойно-катаральный мастит».

Комплексное исследование иммунобиологического статуса проводили в процессе тестирования неспецифической иммунобиологической резистентности. Кислороднезависимые механизмы противомикробной защиты фагоцитов определяли в реакции с интралейкоцитарным лизоцимом (ИЛЛ) и реактивностью лизосомальных катионных белков (ЛКБ). Кислородзависимый потенциал фагоцитарной защиты определяли в цитохимической реакции миелопероксидазы (МПО) и по интенсивности внутриклеточного метаболического восстановления (редукции) нитросинего тетразолия в гранулы диформаза (НСТ-тест) (фагоцитоз, бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК), лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК)) и параметров специфической иммунобиологической реактивности Т- (CD3⁺) и В-(CD22⁺) лимфоциты, циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК): большой, средней и малой молекулярной массы; молекулы средней молекулярной массы, МСМ) [19, 20].

Биометрический анализ полученных результатов исследований и интерпретацию данных проводили с использованием статистической программы Statistica v. 10.

Результаты исследований. Клеточные и гуморальные факторы иммунной защиты, которые лежат в основе иммунного гомеостаза организма, отражают состояние регуляторных и эффекторных механизмов иммунной защиты [2, 7, 19].

Проведенные в этом направлении исследования показали, что в патогенезе мастита изменяются параметры иммунного гомеостаза. Клинико-экспериментальными исследованиями установлено, что субклинический мастит коров сопровождается изменением иммунобиологической реактивности. Первоначально изменения отразились на нарушении лимфоцитарно-гранулоцитарного соотношения (ЛГИ, $0,73 \pm 0,07$, $p < 0,01$), что более усугубилось при развитии гнойно-катарального воспалительного процесса ($0,61 \pm 0,03$, $p < 0,01$). Параллельно с этим изменялся лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) - маркерный показатель глубины эндогенной интоксикации метаболитами воспаления (микробными токсинами, клеточными элементами, пептидами и т.п.).

Субклинический воспалительный процесс в организме коров проявлялся резким снижением уровня бактерицидной активности сыворотки крови ($48,31 \pm 1,28$ против $53,75 \pm 2,37\%$, $p < 0,01$) и незначительным увеличением лизоцимной активности сыворотки крови ($24,34 \pm 1,55$ до $27,15 \pm 1,10\%$). Воспалительная реакция организма при этом также проявлялась на фоне снижения фагоцитарного индекса до $5,35 \pm 0,47$; фагоцитарного числа – до $4,35 \pm 0,45$ и суммарной фагоцитарной емкости – с $29,70 \pm 2,11$ до $23,35 \pm 3,80$, что также указывает на начальную дисфункцию в системе фагоцитарной защиты иммунитета. Гнойно-катаральный мастит у коров проявлялся существенными изменениями в параметрах неспецифической иммунологической реактивности. Патологический процесс сопровождался резким снижением бактерицидной активности сыворотки крови ($p < 0,01$), а также супрессией фагоцитарной реактивности иммунокомпетентных клеток крови. Параллельно с этим происходило увеличение ЛАСК ($p < 0,01$). Феномен увеличения активности сывороточного лизоцима был связан с активной дегрануляцией и лизисом нейтрофилов. Очевидно, микрофаги активно мигрируют в зону патологического процесса (паренхиму молочной железы) и проявляют активный фагоцитоз, что сопровождалось частичной экскрецией цитоплазматического лизоцима.

Серийными иммунологическими исследованиями определено, что субклинический мастит сопровождается активизацией противомикробной реактивности нейтрофилов в НСТ-тесте. В периферической крови больных коров с субклиническим маститом резко (в 2,6 раза, до $17,58 \pm 0,64\%$, $p < 0,001$) увеличивалось количество реактивных микрофагов. Эта метаболическая реакция противомикробных ферментных систем проходила на фоне уровневой активизации цитологического индекса. Параллельно с этим в периферической крови увеличивалось и количество активированных фагоцитов с гранулами миелопероксидазы (с $66,12 \pm 0,94$ до $74,58 \pm 1,15$, $p < 0,01$). Значение ЦЛИ при этом также достоверно ($p < 0,001$) превышало контроль. Менее интенсивно проходила активация интралейкоцитарного лизоцима фагоцитарных клеток. Субклиническая патология вымени сопровождалась увеличением количества дегранулированных клеток (до $0,57 \pm 0,01$, $p < 0,001$), что является одним из специфических свойств цитоморфологических изменений запрограммированной гибели (апоптоза). Суммарный показатель цитохимического потенциала при субклиническом воспалении вымени коров составлял $0,73 \pm 0,07$, что является выраженным признаком превалирования кислородзависимых факторов защиты в генезисе развития этой патологии.

Субклинический мастит коров также проявился изменениями специфической иммунобиологической реактивности. Субклиническое воспаление молочной железы (мастит) коров сопровождалось некоторым уменьшением количества Т-лимфоцитов (с $53,40 \pm 0,83$ до $47,08 \pm 1,01\%$, $p < 0,001$). Гнойно-катаральная воспалительная реакция проявилась резкой супрессией $CD3^+$ иммунокомпетентных клеток клеточного звена иммунной защиты ($41,07 \pm 1,65\%$, $p < 0,001$).

Как известно, важную роль в иммунных реакциях играют аутоантигенные реакции – процесс образования антител на клеточные и гуморальные элементы собственного организма. Обычно аутоантигенные реакции в организме контролируются иммунокомпетентными клетками, что составляет основу иммунного гомеостаза [15, 22-25]. В литературе отечественными и зарубежными учеными неоднократно указывалось на патогенетическое влияние циркулирующих иммунных комплексов и среднемолекулярных молекул на систему локального и системного иммунитета при патологии молочной железы животных. Чрезмерное образование и дисбаланс ЦИК и МСМ часто приводит к супрессии функционального состояния иммунокомпетентных клеток и развитию иммунокомплексного воспаления.

Нашими исследованиями отмечены некоторые изменения в антигенных реакциях в организме больных коров при патологии молочной железы. При субклиническом мастите происходило достоверное (почти в 1,5 раза, $p < 0,001$) увеличение уровня циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) средней молекулярной массой (СiСm) и почти тройным увеличением содержания среднемолекулярных молекул (до $3,60 \pm 0,25$ против $1,16 \pm 0,07$, $p < 0,001$). Эти иммунологические нарушения являются диагностическими маркерными показателями нарастания эндогенной интоксикации метаболитами воспаления.

При гнойно-катаральном мастите проявлялось резкое увеличение ЦИК среднемолекулярных СiСm (11-19 S) с низким клиренсом элиминации (до $220,44 \pm 4,56$, $p < 0,001$). Общеизвестно, что СiСm обладают наибольшей патогенностью и часто провоцируют аутоантигенные перегрузки в организме больных животных.

Заключение. Проведенными клинико-экспериментальными исследованиями установлено, что при субклиническом и гнойно-катаральном мастите коров происходят существенные изменения в системном иммунитете. В патофизиологической модели субклинического и гнойно-катарального мастита отмечены нарушения функционального состояния Т-звена специфического иммунитета, угнетение бактерицидной активности сыворотки крови и фагоцитоза, что происходило на фоне изменения цитохимической реактивности фагоцитарных клеток (НСТ-тест, МПО, ЛКБ, ИЛЛ), увеличения уровня циркулирующих иммунных комплексов и молекул средней молекулярной массой.

Литература. 1. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології [Яблонський В. А., Хомин С. П., Калиновський Г. М., Харута Г. Г., Харенко М. І., Завірюха В. І., Любецький В. І.] ; за ред. В. А. Яблонського та С. П. Хомина : підруч. [для підготовки фахівців навч. закл. III-IV рівнів акредитації]. – Вінниця : Нова книга, 2006. – 592 с. 2. Гавриченко, Н. И. Воспроизводительная способность, молочная продуктивность и частота акушерско-гинекологических заболеваний у коров с разным типом стрессоустойчивости / Н. И. Гавриченко, В. Р. Каплунов, Т. В. Павлова // Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных : материалы международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию со дня рождения и 50-летию научно-практической деятельности доктора ветеринарных наук, профессора Г. Ф. Медведева (10-12 октября 2013 г.). – Горки : БГСХА, 2013. – С. 528–533. 3. Кузьмич, Р. Г. Рекомендации по совершенствованию диагностики, лечения и профилактики при маститах у коров / Р. Г. Кузьмич, А. А. Абрамов, С. С., Шляхтун, В. И. – Витебск : УО ВГАВМ. – 2006. – 63 с. 4. Walt, D. R. Optical methods for single molecule detection and analysis / D. R. Walt // Analytical Chem. – 2013. – Feb. 5. – Vol. 85 (3). – P. 1258–1263. 5. Staphylococcus aureus and Escherichia coli cause deviating expression profiles of cytokines and lactoferrin messenger ribonucleic acid in mammary epithelial cells / [B. Griesbeck-Zilch, H. D. Meyer, C. Kühn, M. Schwerin et al.] // J. Dairy Sci. – 2008. – Vol. 91. – P. 2215–2224. 6. Wellnitz, O. Lipopolysaccharide and lipoteichoic acid induce different immune responses in the bovine mammary gland / O. Wellnitz, E. T. Arnold, R. M. Bruckmaier // J. Dairy Sci. – 2011. – Vol. 94. – P. 5405–5412. 7. Induced hyperketonemia affects the mammary immune response during lipopolysaccharide challenge in dairy cows / [M. Zarrin, O. Wellnitz, H. A. van Dorland, R. M. Bruckmaier] // Journal of Dairy Science. – 2014. – Vol. 97, N. 1, P. 330–339. 8. Яблонский, В. А. Локальный иммунитет и апоптоз иммунокомпетентных клеток при субклиническом мастите коров / В. А. Яблонский, Н. Н. Желавский // Материалы Международной научно-практической конференции «Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных», посвященной 100-летию со дня рождения профессора В. А. Акатова, Воронеж, 27-29 мая, 2009 г. – Воронеж: Изд-во Истоки, 2009. – С. 393–397. 9. Биопленка микроорганизмов как фактор формирования резистентности к антибиотикам / Р. Г. Кузьмич, А. А. Летунович, С. С. Абрамов, В. И. Шляхтун // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал. – Витебск, 2017. – Т. 53, Вып. 2. – С. 76-80. 10. Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows / [van H. A. Dorland, S. Richter, I. Morel, M. G. Doherr et al.] // J. Dairy Sci. – 2009. – Vol. 92. – P. 1924–1940. 11. Терапевтическая эффективность гомеопатического препарата «Мастометрин» при субклиническом мастите у коров / Р. Г. Кузьмич, А. А. Гарбузов, Е. А. Юшковский, Л. Н. Рубанец, А. Н. Козловский // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал. – Витебск, 2011. – Т. 47, Вып. 2, Ч. 1. – С. 180-182. 12. Local and systemic response to intra-mammary lipopolysaccharide challenge during long-term manipulated plasma glucose and insulin concentrations in dairy cows / [M. C. Vernay, M. B. Wellnitz, L. Kreipe, van H. A. Dorland et al.] // J. Dairy Sci. – 2012. – Vol. 95. – P. 2540–2549. 13. Rains, J. L. Hyperketonemia increases monocyte adhesion to endothelial cells and is mediated by LFA-1 expression in monocytes and ICAM-1 expression in endothelial cells / J. L. Rains, S. K. Jain // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2011. – Vol. 301. – P. 298–306. 14. Желавський, М. М. Зміни протимікробного потенціалу фагоцитів за маститу корів / М. М. Желавський // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини : зб. наук. праць Харківської державної зооветеринарної академії. Серія «Ветеринарні науки». – 2011. – Вип. 23, Т. 2, Ч. 2. – С. 438–440. 15. Яблонский, В. А. Изменение уровня циркулирующих иммунных комплексов и средних молекул при мастите коров / В. А. Яблонский, Н. Н. Желавский // Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных : материалы международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию со дня рождения и 50-летию научно-практической деятельности доктора ветеринарных наук, профессора Г. Ф. Медведева, (10-12 октября 2013 г.). – Горки : БГСХА, 2013. – С. 484–489. 16. Long-term elevation of β -hydroxybutyrate in dairy cows through infusion: Effects on feed intake, milk production, and metabolism / [M. Zarrin, L. M. De Matteis, M. B. Vernay, O. Wellnitz et al.] // J. Dairy Sci. – 2013. – Vol. 96. – P. 2960–2972. 17. Яблонський, В. А. Апоптоз імунікомпетентних клітин крові корів у період лактації / В. А. Яблонський, М. М. Желавський // Науковий вісник Національного аграрного університету. – 2008. – Вип. 126. – С. 233–236. 18. Желавский, Н. Н. Функциональное состояние клеточных факторов локального иммунитета молочной железы коров в различные периоды лактации / Н. Н. Желавский // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник научных трудов УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия». – Вып. №18, Ч. 2. – Горки : БГСХА, 2015. – С. 187 – 197. 19. Tizard, Ian R. Veterinary Immunology, Saunders: Elsevier., 2013. – P. 568. 20. Яблонський, В. А. Що до методики імунологічних обстежень тварин / В. А. Яблонський, О. О. Боднар, М. М. Желавський // Ветеринарна медицина України. – 2001. – № 6. – С. 46. 21. Presence of ISS1-like insertion sequence in wild type Streptococcus uberis strains isolated from cases of bovine mastitis / [Oudessa Kerro Dego, R. A. Almeida, A. L. Stephen et al.] // Vet. Microbiol. – 2011. – Vol. 151. – P. 315–320. 22. Желавський, Н. Н. Изменение локальной иммунной защиты молочной железы коров при мастите / Н. Н. Желавский, К. В. Борусевич // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак почета» государственная академия ветеринарной медицины» –Т. 53. – Вып. 2 (апрель - июнь). – 2017. – С. 53-56. 23. Zhelavskiy, M. M. Ontogenetic features of the formation of local immune protection of the mammary gland of cows (literature review and original research) / M. M. Zhelavskiy // Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies named after S. Z. Gzhytskyi, 2017. Vol. 19. – N 79. – P. 3-8. 24. Zhelavskiy, M. M. The status of phagocytic protection the mammary gland's secretion of cows during subclinical mastitis / M. M. Zhelavskiy // Abstracts book XVI International Semitic and Practical Con-

ference of Professor, Researchers, Postgraduate Students, Students "Actual Questions in Veterinary Medicine" Kyiv. NULESU. – 2017. – P.117-118. 25. Vaccination of dairy cows with recombinant *Streptococcus uberis* adhesion molecule induces antibodies that block adherence to and internalization of *S. uberis* into bovine mammary epithelial cells / [M. E. Prado, R. A. Almeida, C. Ozen, D. A. Luther, M. J. Lewis et al.] / Vet. Immunol. Immunopathol. – 2011. – Vol. 141. – P. 201–208.

Статья передана в печать 02.04.2018 г.

УДК 619:618.17

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БЕСПЛОДИЯ КОРОВ ЗАПАДНОГО ПОДОЛЬЯ УКРАИНЫ

Желавский Н.Н., Мизык В.П., Керничный С.П.

Подольский государственный аграрно-технический университет,
г. Каменец-Подольский, Украина

*В статье рассмотрены актуальные вопросы этиологии акушерских и гинекологических заболеваний коров голштинизированных помесей украинской черно-пестрой молочной породы в промышленных хозяйствах западного Подолья Украины. Определено, что в основе этиологии бесплодия животных являются акушерские и гинекологические болезни, а также метаболические нарушения, которые возникают вследствие нарушения кормления. В работе сделано научное обоснование основных патогенетических механизмов развития репродуктивной патологии, а также предложены рекомендации для проведения акушерской и гинекологической диспансеризации. **Ключевые слова:** коровы, репродуктивная система, этиопатогенез бесплодия, диспансеризация.*

CURRENT ISSUES OF WESTERN PODILLYA COWS' INFERTILITY IN UKRAINE

Zhelavskiy M.M., Mizik V.P., Kernicniy S.P.

State Agrarian and Engineering University in Podilya, Kamyanets-Podilsky, Ukraine

*In the article the issues of the etiology of obstetric and gynecological diseases of cows of Ukrainian black-and-white dairy breed in industrial farms of western Podillya of Ukraine are considered more topical. It is determined that obstetric and gynecological diseases, as well as metabolic disorders that arise because of feeding disorders, are the basis of the inostructural infertility of animals. The scientific substantiation of the main pathogenetic mechanisms of the development of reproductive pathology was stated in the work, and recommendations for obstetric and gynecological examination were suggested. **Keywords:** cows, reproductive system, etiopathogenesis of infertility, dispanserisation.*

Введение. Успешное и благополучное развитие отрасли молочного скотоводства неотъемлемо связано с полноценной воспроизводительной функцией коров. Бесплодие наносит существенные экономические убытки и является одной из главных причин низкой интенсификации сельскохозяйственного производства как в Украине, так и в странах СНГ [1-4].

В хозяйства Украины ежегодно из-за границы импортируют молодняк разных пород крупного рогатого скота, который используют как для повышения молочной продуктивности, так и улучшения генетического потенциала местного поголовья. Широкомасштабной практикой является комплектация стада новыми породами и помесями из племенных хозяйств. Часто среди новозаведенного стада отмечают нарушение физиологической адаптации, стрессы, что приводит к снижению иммунобиологической резистентности, гормональной дисрегуляции, уменьшению продуктивности, а также развитию бесплодия [4, 5-8]. Исходя из актуальности проблемы, основной целью нашей работы явилось изучение основных причин и вариабельности бесплодия коров в промышленных хозяйствах западного Подолья Украины, а также разработка эффективных мер профилактики репродуктивной патологии.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в 2012-2018 гг. в соответствии с научно-исследовательской тематикой кафедры ветеринарного акушерства, внутренней патологии и хирургии Подольского государственного аграрно-технического университета, а также в хозяйствах западного Подолья Украины (филиалы ООО «Оболонь Агро»). В процессе проведения акушерской и гинекологической диспансеризации под наблюдением находилось 478 коров украинской черно-пестрой молочной породы. Лабораторные исследования проводили в специализированной лаборатории иммунологии репродукции животных университета, основанной доктором биологических наук, профессором, член-корреспондентом НААН Украины В.А. Яблонским.

Результаты исследований. При проведении плановых мероприятий акушерской и гинекологической диспансеризации, анализа амбулаторных журналов регистрации больных животных, документации ветеринарного учета и отчетов нами было определено, что в базовых хозяйствах Хмельницкой области среди поголовья крупного рогатого скота репродуктивная патология имеет наибольшую распространенность (до 62%) в общей этиоструктуре незаразных болезней животных. Наиболее часто в хозяйствах региона регистрируется симптоматическое и алиментарное бесплодие коров. Проблемы с репродуктивным здоровьем поголовья особенно